

CONTRIBUȚII LA SEPARAREA ȘI IDENTIFICAREA ERBICIDULUI ACID 2,4-DICLORFENOXIACETIC DIN MATERIAL BIOLOGIC

Maria Kincses-Ajtay, Jozefa Szöcs

Derivații fenoxiacetici clorurați, în primul rînd acidul 2,4-diclorfenoxiacetic (2,4D; Diclordon) sînt erbicide selective, sistemice, cu acțiune pseudofitohormonală, folosite pe scară largă în agricultura noastră. Utilizarea lor intensă însă a relevat și unele aspecte negative, cele mai importante fiind toxicitatea lor pentru mamifere și om, precum și formarea de reziduuri de erbicide în apă, sol și alimente, constituind astfel o sursă serioasă de poluare a mediului înconjurător (1, 2, 3).

În scopul separării și identificării 2,4-D-lui din material biologic am elaborat o metodă cromatografică în strat subțire respectiv de electroforeză pe hîrtie. În literatura de specialitate se cunosc relativ puține date privind separarea erbicidelor din această grupă prin cromatografia în strat subțire (4, 5) și mai ales prin electroforeza pe hîrtie (6).

Material și metodă

În vederea separării cromatografice în strat subțire a derivaților clorfenoxiacetici, s-a urmărit găsirea unui sistem de dezvoltare, care să permită o bună separare a derivaților din această grupă (acid 2,4-diclorfenoxiacetic, 2,4 D; acid 4-clorfenoxiacetic, PCPA; acid 2-metil-4-clorfenoxiacetic, MCPA; acid 2,4,5-triclorfenoxiacetic, 2, 4, 5T) și aplicarea unor reactivi de diferențiere.

Am folosit tehnica cromatografică ascendentă, monodimensională, utilizînd ca suport silicagel cu un adaos de 13% sulfat de calciu, stratul avînd o grosime de 0,25 mm. Sensibilitatea metodei este de 40 μ g/spot substanță activă. Timpul migrării este de 20 de minute.

Localizarea spoturilor s-a efectuat cu soluție de acid cromotropic în acid sulfuric (4 g acid cromotropic + 40 g apă distilată + 50 g acid sulfuric concentrat) (7) sau cu soluție de nitrat de argint 0,5% în etanol. În ambele cazuri pulverizarea este urmată de încălzirea cromatoplăcilor la 110 °C timp de 20 de minute în etuvă. Rezultatele obținute sînt redată în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1
Valoarea Rf obținută cu sistemele de solvenți

Denumirea substanței	Rf \times 100									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PCPA	84	75	20	15	—	—	10	—	50	35
2,4 D	70	80	30	20	15	—	10	—	55	29
MCPA	90	90	20	40	20	—	—	—	80	58
2,4,5T	72	95	30	55	80	50	—	50	75	80

1. CHCl_3 :ac. acetic glac. (95:5);
2. CHCl_3 :ac. acetic glac. (690:10);
3. Alcool metilic: NH_4OH conc. (9:1);
4. Hexan n:aceat de etil: HCOOH (8:2:0,04);
5. CHCl_3 : acetona (9:1);
6. Toluen:acetona:amoniac conc. (25:25:0,5);
7. Hexan n:acetona (5:1);
8. Benzen;
9. Benzen: CH_3COOH glac.:eter de petrol (15:10:75);
10. Toluen: CH_3COOH :eter de petrol (15:10:75).

La separarea electroforetică a erbicidelor clorfenoxiacetice am folosit electroforeza orizontală, aplicînd o tensiune de 300 V și o intensitate de 30 mA. Ca suport s-a folosit hîrtie cromatografică Whatman nr. 1. Sensul migrării este de la catod la anod. Sensibilitatea metodei este de 30 μg substanță activă pe spot. Timpul de migrare este de 60 de minute. Localizarea spoturilor s-a efectuat cu soluție de nitrat de argint 2% în apă. Se obțin spoturi albe pe fond gri. Rezultatele sînt redade în tabelul nr. 2.

Tabelul nr. 2

Distanțele de migrare în mm

Denumirea substanței	Electrolitul utilizat				
	1	2	3	4	5
2,4 D	45	67	71	74	55
2,4,5 T	50	61	55	43	48
PCPA	45	75	74	60	50
MCPA	50	70	70	53	57

1. Ac. formic 2N (pH:1,5);
2. Britton—Robinson (pH:10,8);
3. Britton—Robinson (pH:7,9);
4. Borax—ac. boric (pH:8,2);
5. Walpole (pH:5,6).

Pentru separarea și identificarea 2,4 D-lui din material biologic, s-a efectuat extracția toxicului din urina cobailor tratați cu 2,4 D (doza administrată este de 500 mg/kg corp 2,4 D peros), probele de urină fiind recoltate la 12, 18, 24, 36, 48, 72 ore după administrare. Materialul biologic se acidulează cu acid sulfuric diluat pînă la $\text{pH} = 2$ și se extrage cu eter etilic; soluția obținută servește pentru cromatografia în strat subțire, cît și pentru electroforeza pe hîrtie.

Rezultate și discuții

Experiențele noastre au arătat că sistemul de dezvoltare clorform:acid acetic glacial (9:1) a dat cele mai bune rezultate în ceea ce privește separarea și identificarea 2,4 D-lui din urina cobailor intoxicați, evidențierea spoturilor fiind făcută cu soluție de nitrat de argint 0,5% în etanol, urmată de încălzirea cromatoplăcii. La electroforeza pe hîrtie în

condițiile experiențelor noastre, cele mai bune rezultate le-am obținut cu electrolitul tampon Britton-Robinson la $\text{pH} = 7,9$.

Concluzii

Având în vedere sensibilitatea, rapiditatea și specificitatea metodelor elaborate, ele sînt aplicabile în analizele toxicologice.

Sosit la redacție: 14 februarie 1978.

Bibliografie

1. Berwick P.: J.A.M.A. (1970), 214, 1114; 2. *** O.M.S. — serie: „Residues des pesticides“, Geneve, (1974), 1; 3. Feborova L. M. V.: Ref. Journ. (1975), 8, 854; 4. Szócs Jozefa, K. Ajtay Maria: Revista medicală (1975), 1, 94; 5. Geike F.: J. Chrom. (1972), 72, 333; 6. Purkayastha R.: Bull. Envir. Cont. Tox. (1969), 4, 246; 7. Meinard D.: J. Chrom. (1971), 61, 173.

Maria Kincses-Ajtay, Jozefa Szócs

CONTRIBUTIONS TO THE SEPARATION AND IDENTIFICATION OF 2,4-DICHLORPHENOXYACETIC ACID HERBICIDE FROM BIOLOGICAL MATERIAL

In order to separate and identify 2,4-dichlorphenoxyacetic acid (2,4 D; Diclorodon) from biological material, a method was elaborated based on thin-layer chromatography and paper electrophoresis, respectively. The extraction of toxin from the biological material was made with sulphuric ether from a medium acidulated with sulphuric acid ($\text{pH} = 2$). As for the separation and identification of 2,4 D from the urine of guinea pigs, the best TLC results were obtained by chloroform: glacial acetic acid (9:1) migration system, and the spots were pointed out with 0.5% silver nitrate-ethanol solution. After pulverization the chromatoplate was heated to 110°C for 20 minutes. In paper electrophoresis (tension: 300 V, intensity: 30 mA) the best results were obtained with Britton-Robinson buffer electrolyte at $\text{pH}=7.9$. The sensibility was $40 \mu\text{g}$ spot active substance.